

End of Result Set

L9: Entry 1 of 1

File: JPAB

Sep 27, 1988

PUB-NO: JP363230629A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 63230629 A

TITLE: PREVENTIVE AND REMEDY FOR AUTOIMMUNE DISEASE

PUBN-DATE: September 27, 1988

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
AOYANAGI, TAKAAKI	
TAHIRA, TAKESHI	
TAKEUCHI, TOMIO	

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
MICROBIAL CHEM RES FOUND	

APPL-NO: JP62062689

APPL-DATE: March 19, 1987

INT-CL (IPC): A61K 31/16; C07C 103/50

ABSTRACT:

PURPOSE: To obtain the titled remedy, by using bactobolin as an active component.

CONSTITUTION: A preventive and remedy for autoimmune diseases such as multiple sclerosis, acute sporadic myelopathy and collagen disease can be produced by using the compound of formula as an active component. The compound can be used in the form of injection for intramuscular or intravenous use, etc., oral drug such as capsule, tablet, granule, powder and solution or external agent such as ointment, drug for rectal application, etc. It is administered preferably in a dose of 1∼1,000mg daily per person. The compound of formula can be produced by culturing Pseudomonas BMG 13-A7 strain (FERM-P 5083) on a slant agar medium, culturing the cultured strain in a liquid medium composed of maltose, yeast extract, NZ-amine and salt, inoculating the obtained seed culture liquid to a jar culture vessel made of stainless steel and containing the same liquid medium, culturing the strain and removing the microbial cells from the cultured product.

COPYRIGHT: (C)1988,JPO&Japio

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
 ⑪ 公開特許公報 (A) 昭63-230629

⑫ Int.Cl.
 A 61 K 31/16
 // C 07 C 103/50

識別記号 ABD 廣内整理番号 7330-4C

⑬ 公開 昭和63年(1988)9月27日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑭ 発明の名称 自己免疫疾患予防治療剤

⑮ 特願 昭62-62689
 ⑯ 出願 昭62(1987)3月19日

⑰ 発明者 青柳 高明 神奈川県藤沢市本鶴沼3丁目3番6号
 ⑱ 発明者 田平 武 東京都小平市小川東町4-1-1 I-201
 ⑲ 発明者 竹内 富雄 東京都品川区東五反田5丁目1番11号
 ⑳ 出願人 財団法人 敏生物化学 東京都品川区上大崎3丁目14番23号
 研究会
 ㉑ 代理人 弁理士 八木田 茂 外2名

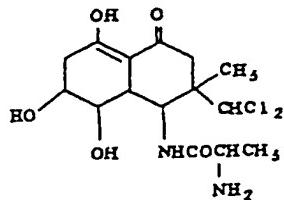
明細書

1. 発明の名称

自己免疫疾患予防治療剤

2. 特許請求の範囲

次式



で示されるバクトボリンを有効成分とする自己免疫疾患予防治療剤。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は新規な自己免疫疾患予防治療剤に関するものである。

(従来の技術)

自己免疫疾患予防治療剤としては、従来、抗リンパ球免疫グロブリン、グルココルチコイド剤、

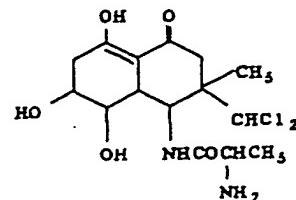
抗代謝拮抗剤あるいはアルキル化剤などが知られている。

(発明が解決しようとする問題点)

前記した既存の自己免疫疾患予防治療剤には、有効性および毒性の面で不満足なものが多く、より優れた薬剤は常に希望されており、本発明は、これに応えるとするものである。

(問題点を解決するための手段)

本発明者は次式(I)



(I)

で示されるバクトボリン (Bactebolin) が自己免疫疾患予防治療効果を有することを見出した。

本発明に使用するバクトボリンはシニードセナス (Psoudamomias) 属に属する細菌によって生産さ

れる既知化合物で抗菌活性及び抗腫瘍活性を有していることも知られている(特開昭56-22977号公報)が、本発明は予想外にもバクトボリンが自己免疫疾患予防治療効果を見い出したことに基づいている。バクトボリン(以下、本物質といふ)の有する自己免疫疾患予防治療効果は後に記した動物実験により具体的に説明される。このような効果を有する本物質は多発性硬化症、急性散在性脳炎症、膠原病などの自己免疫疾患の予防治療薬として有用である。本物質の急性毒性は、特開昭56-22977号公報によれば6.25~12.5mg/kg(マウス、静注)である。

本発明で用いるバクトボリンは、例えば参考例1、2に記した方法で製造することができ、自己免疫疾患予防治療剤として用いるには遊離塩基のまま又は非導性の酸との塩の形で用いる。

バクトボリンを有効成分とする本剤は、筋注、静注などの注射剤、カプセル剤、錠剤、顆粒剤、散剤、液剤などの経口剤あるいは軟膏剤、直腸投与剤などの外用剤の形に製剤できる。バクトボリ

ン天糸面培地に培養したシユードモナスB MG / 3-ムツ株(アエロム-PS083)を、マルトース1.5g、酵母エキス0.5g、NZ-アミン(A型、フムコ・シェフィルド化学製)1.0%、食塩0.3%からなる液体培地(pH 7.4)110mlを含む500ml容三角フラスコに播種し、27℃で24時間、回転振盪器(毎分180回転)上で培養して細胞濃度を得た。

次に上記と同じ液体培地15mlを含む50ml容のステンレス・スチール製ジャー培養器に植培養液(110ml)を接種し、27℃で8時間培養した(搅拌: 每分250回転、通気量毎分15ml)。ジャー培養器2基分の培養液を合して遠心分離機(毎分10000回転)で菌体を除去し、上澄液25ml(2ml/ml)を得た。これを、アンバーライトXAD-2の1.5mを充填した塔(内径6.5cm)にかけ、2mlの水で洗浄後、50mlメタノール水で溶出し、17.5mlずつ分画した。分画33-39を合して減圧濃縮乾燥し、バクトボリンの粗粉末1.26g(71.0%)を得た。

この投与量は、投与経路、剤型形状などにより変動するが、成人1日量1~1000mgの範囲で選択するのが好ましい。

バクトボリンを製剤するには、通常の方法で賦形化され、本物質に悪影響を与えない限り、製葉技術で知られる種々の成分を配合することができる。注射剤として製剤するには、本物質を注射用滅菌水あるいは生理食塩水に溶解し、必要に応じ安定剤、分散剤、無痛化剤などを加え注射用アンプルに充填するか、あるいはパイアルビン中で減圧乾燥し、投与時に注射用滅菌水あるいは生理食塩水に溶解して用いるようにすることができる。経口剤として製剤するには、本物質に賦形剤、安定剤、防腐剤、分散剤などを添加し適当な剤型に製剤する。また、外用剤とするには、本物質を、着色剤、安定剤、防腐剤、界面活性剤などを加え適当な剤型に製剤する。

次にバクトボリンの溶解法による製造例を参考例に示す。

参考例1

収率6.0%。

参考例2

実験例1で得られた粗粉末1.26gを20mlの水に溶かし、アンバーライトCG-50 I型(NH_4^+ と H^+ を2:3混合)400mlをつめた塔(内径3cm)にかけ、既て水で展開し、17.5mlずつ分画した。分画33-39を合して減圧濃縮乾燥し、1.7gの淡黄色粉末(48.9%)を得た。収率71.1%。

さらに、この粉末を4mlの水に溶かし、再びアンバーライトCG-50 I型(NH_4^+ と H^+ 2:3混合)100mlの塔(内径1.6cm)にかけ、水で展開し、14.5mlずつ分画した。分画33-39を合して減圧濃縮乾燥し、7.4mlのバクトボリンの白色粉末(71.9%)を得た。収率77.3%。

次に本発明の薬剤の製剤例を示す。

製剤例1

1パイアル中にバクトボリン1mg(力値)を含有するより無菌的に分注した。

試験例2

バクトボリン 10部
乳糖 60部
ステアリン酸マダネシウム 5部
これらを均一に混合し10%（力量）/カプセルになるようにカプセルに充填した。

試験例3

オリーブ油 160部
ポリオキシエチレンラウリルエーテル 10部
ヘキサメタリン酸ナトリウム 5部
からなる均一な基剤に、バクトボリンの5部を加え均一に混合し5%（力量）/カプセルになるよう直肠投与用ソフトカプセルに充填した。

〔発明の効果〕

実験的アレルギー性脳脊髄炎 (Experimental allergic encephalomyelitis, EAE) は中枢神経髓鞘抗原感作により惹起される自己免疫性脳脊髄炎で、多発性硬化症 (multiple sclerosis) の良い動物モデルと考えられている (Paterson, P.Y.,

抑制し、EAEの誘導期に対して抑制的に働くことが示された (後記の表2参照)。

表1

EAEの臨床的症状におけるバクトボリンの効果 (誘導期の処置)

供試化合物	投与量 (mg/kg)	投与期間	EAEの発症		重症度* (±SD)
			(発症動物数/ 試験動物数)		
対照(無投与)	-		5/5	10.2±1.9	
バクトボリン	0.5	1-8日目	0/5	0±0	

*免疫後16日間観察し、さらに病理検査を行つた。

表2

組織学的EAEに対するバクトボリンの効果 (誘導期の処量)

供試化合物	供試動物数	組織学的スコア* (±SD)
対照(無投与)	6	3.0±0.3
バクトボリン	5	0.5±0.6

*脊髓、脳を含む6ヶ所の平均値。

"Autoimmunity : Genetic, Immunobiology,

Virologic and Clinical Aspects," Academic

Press, New York. (1977) 及び

Alvord, E.C., Jr., Kies, M.W., and Suckling, A.J., "Experimental Allergic Encephalomyelitis - A Useful Model for Multiple Sclerosis," Alan R. Liss, New York. (1984)].

バクトボリンの有する自己免疫疾患子防治効果は以下の試験例によつて説明される。

試験例1 ラット急性実験的自己免疫性脳脊髄炎

(EAE) の誘導期の抑制効果

ミエリン塩基性タンパク/フロイント完全アグニペンド (MBP/CFA) 感作動物 (ラット) に、免疫の翌日 (day 0) から day 8まで、0.5% / 日のバクトボリンを連日投与した。どの投与期間は上記EAEの誘導期に相当する。その結果、対照ラットは観察期間中に全例がEAEを発症したのに対し、バクトボリン投与群では1例も発症しなかつた (後記の表1参照)。

また、バクトボリンは組織学的EAEも著明に

試験例2 EAEの効果期の抑制効果

主としてEAEの効果期に相当すると思われる期間 (day 8 ~ 14)、MBP/CFA免疫動物をバクトボリンを投与して、その効果をみた。バクトボリンは不免疫でも、著明にEAEの発症を抑制した (後記の表2参照)。

また、バクトボリンをDay 8~14の期間投与すると、組織学的効果も著明に抑制した (後記の表3参照)。

表3

EAEの臨床的症状におけるバクトボリンの効果 (効果期 (免疫後第8~14日) の処置)

供試化合物	投与量 (mg/kg)	EAEの発症 (発症動物数/ 試験動物数)	重症度* (±SD)
対照(無投与)	-	5/5	13.8±2.0
バクトボリン	0.5	0/5	0±0

* 15日後に動物を病理学的検討に付した。

表 4

組織学的 EAE におけるバクトボリンの効果（効果期の効果）

供試化合物	供試動物数	組織学的スコア* ($\pm SD$)
対照（無投与）	5	2.4 \pm 0.5
バクトボリン	5	0.1 \pm 0.1

* 免疫後 15 日間組織学的検討を行つた。

試験例 3 EAE 発症後の抑制効果

EAE が発症してからバクトボリンを投与しても治療効果があるかどうか検討した。EAE 発症後日よりバクトボリンの投与を開始した結果、罹病期間にはあまり影響がなかつたが、マヒスコアは有意に抑制された（下記の表 5 参照）。

表 5

EAE 発生後のバクトボリンの効果*

供試化合物	投与量 (mg/kg)	罹病期間 (日数 $\pm SD$)	重症度 ($\pm SD$)
対照（無投与）		5.0 \pm 1.1	11.2 \pm 1.9
バクトボリン	0.5	4.4 \pm 1.0	4.6 \pm 1.2

* 最初の症状が認められてから発症（バクトボリン投与）を開始した（対照群はリン酸バツフブーのみを投与した）。

試験例 4 受身型 EAE に対する効果

バクトボリンの EAE 効果期に対する抑制効果をより明確にするため K、受身型 EAE に対する抑制効果をみた。バクトボリンは受身型 EAE の発症も著明に抑制した（下記の表 6 参照）。

表 6

受身型 EAE に対するバクトボリンの効果

供試化合物	投与量 (0.5mg/kg)	EAE の発症	重症度 ($\pm SD$)
対照（無投与）	—	2/2	9.5 \pm 0.5
バクトボリン	0.5	0/2	0 \pm 0

試験例 5 リンパ球増殖反応に対する抑制効果

対照およびバクトボリン投与ラットの Day 11 (感作 11 日目) のリンパ節細胞を用いて、抗原特異的増殖反応と Con A 応答を測定した。バクトボリン投与群のリンパ節細胞では抗原特異的増殖反応がみられず、また Con A 応答も抑制されていた（下記の表 7 参照）。

表 7

リンパ球増殖反応に対するバクトボリンの効果

抗原又は 分裂促進 因子	対照（無投与） CPM $\pm SD$	バクトボリン CPM $\pm SD$
—	11,927 \pm 331	5,858 \pm 316
MBP	30,214 \pm 2,081	2,307 \pm 670
PPD	34,554 \pm 2,958	5,313 \pm 696
ConA	338,783 \pm 6,433	32,371 \pm 27,295

以上の試験例で示したごとく、バクトボリンは、EAE の誘導期と効果期の両相を著るしく抑制し、予防効果があることが認められた。また、発症後の EAE にもバクトボリンは抑制効果を示して治療効果もあることが認められた。